

BEST AVAILABLE COPY

B5

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 59-021685

(43)Date of publication of application : 03.02.1984

(51)Int.Cl.

C07D475/04

(21)Application number : 57-132793

(71)Applicant : SUNTORY LTD

(22)Date of filing : 28.07.1982

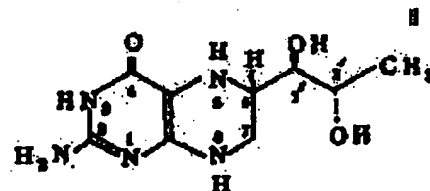
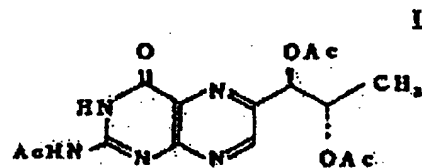
(72)Inventor : TATSUOKA TOSHIO  
ISHIGURO MASAJI  
NAKATSUKA NOBUO

## (54) PREPARATION OF TETRAHYDRO-L-BIOPTERIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To prepare the titled compound useful as a coenzyme, a reagent, etc., with simple operation, in high yield and purity, by catalytically reducing triacetyl-L-biopterin, followed by acetylation, optical resolution and hydrolysis of the product.

CONSTITUTION: The objective 5,6,7,8-tetrahydro-L-erythro-biopterin of formula II can be prepared by (1) catalytically reducing 2-N-acetyl-1',2'-di-O-acetyl-L- erythro-biopterin of formula I using a catalyst such as platinum oxide, etc., (2) acetylating the product to obtain 2-N-acetyl-5,8-di-N-acetyl-1',2'-di-O-acetyl-5,6,7,8- tetrahydro-L-erythro-biopterin, (3) optically resolving the product into 6-R isomer and 6-S isomer, and (4) hydrilyzing the isomer in the presence of a mineral acid such as hydrochloric acid.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## ⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—21685

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 07 D 475/04

識別記号

庁内整理番号  
6664—4C

⑬ 公開 昭和59年(1984)2月3日

発明の数 3  
審査請求 未請求

(全 6 頁)

## ⑭ テトラヒドロ-L-バイオプテリンの製造法

⑯ 特 願 昭57—132793

⑰ 出 願 昭57(1982)7月28日

⑱ 発 明 者 立岡敏雄  
大阪府三島郡島本町水無瀬2丁  
目2番2号

⑲ 発 明 者 石黒正路

池田市石橋2丁目13番地22号

⑳ 発 明 者 中塚伸夫

枚方市宮之阪3丁目21番地5号

㉑ 出 願 人 サントリー株式会社

大阪市北区堂島浜2丁目1番40  
号

㉒ 代 理 人 弁理士 竹内卓

## 明 細 書

## 1 発明の名称

テトラヒドロ-L-バイオプテリン  
の製造法

## 2 特許請求の範囲

1 2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオプテリンを接触還元したのちアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリンを生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリンの製造法。

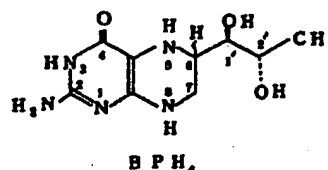
2 2,5,8-トリアミノ-4-ピリミジノールに5-デオキシアラビノースのヒドラゾンを用させたのちヨウ素、過酸化水素水および酸素を作用させてL-エリスローバイオプテリンを得、これをアセチル化して得られる2-N-ア

セチル-1,2-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオプテリンを接触還元したのちアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリンを生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを特徴とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリンの製造法。

3 2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン。

## 3 発明の詳細な説明

本発明は5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン(以下BPH<sub>4</sub>と略称)の製造法に関する。



BPH<sub>2</sub>は6位の水素の立体配置により6-(R)および6-(S)異性体が知られている〔Furrer, H.ら, *Helv. chim. Acta*, **62**, 2577 (1979)〕。そして、なかんずく6-(R)BPH<sub>2</sub>はフェニルアラニン水酸化酵素の補酵素であると同時に、他の芳香族アミノ酸水酸化酵素の補酵素でもある。それ故その欠乏は神経伝達物質であるセロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリンなどを欠乏させ、重篤な神経症状を発症させる。また、先天性代謝異常状態の一つである悪性高フェニルアラニン血症は既存の薬物療法では容易には治療できない難病であるが、これは6-(R)BPH<sub>2</sub>の欠乏によりフェニルアラニンのチロジンへの変換が阻害されるために起ることが知られている。

悪性高フェニルアラニン血症の治療に6-(R)-BPH<sub>2</sub>の投与が考えられるが、そのためには本品を高純度に経済的に量産する方法の開発が望まれている。

また、6-(S)-BPH<sub>2</sub>は生化学研究上の試薬として有用である。

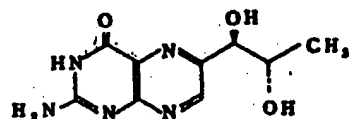
本発明者らは先ずL-BPの製造について研究を重ね、簡単な操作で大量のL-BPを得ることに成功した。

松浦らは5-デオキシ-L-アラビノースのフェニルヒドラゾンをトリアミノピリミジノールと縮合させた縮合体をフェリシアン化カリ、ヨウ化カリ、過酸化水素水および酸素を用いて酸化し、生成物をアンモニア水で抽出し、フロリジルカラムにより精製している。この場合、溶出に大量の水を必要とするばかりでなく、L-BPの直後に副生物のプテリンが溶出されるため純粋なL-BPを完全に取り出すことが困難である。

本発明者らは上記の縮合体をヨウ素、過酸化水素水および酸素で酸化したのち、有機溶媒でヨウ素を除去すれば容易に粗結晶としてL-BPが得られることを見出した。この粗結晶をアセチル化し、シリカゲルカラムクロマトグラフィを行ってトリアセチルバイオプテリンを得、これを加水分解して高収率でL-BPを得ることができた。

また、6-(RまたはS)-BPH<sub>2</sub>の合成法と

一方、BPH<sub>2</sub>を合成するためにはL-エリスロバイオプテリン(以下L-BPと略称)が重要な中間体となる。



L-BP

従来、L-BPの製造法としては、Patterson, E. L.ら〔*J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 5888 (1956)〕、Taylor, E. C.ら〔同誌, **98**, 2301 (1976)〕、Andrews, K. J. M. ら〔*J. Chem. Soc. (C)*, **1969**, 928〕、Viscontini, M. ら〔*Helv. Chim. Acta*, **52**, 1225 (1969)〕などの報告があるが、収率、純度および精製法などに多くの問題がある。また、松浦ら〔*Bull. Chim. Soc. Jap.*, **52**, 181 (1979)〕は収率28%でL-BPを得ているが、反応処理の煩雑さ、副生物の混入など多くの問題が未解決である。

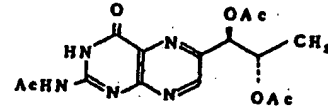
してViscontini, M. ら〔*Helv. Chim. Acta*, **62**, 2577 (1979)〕はトリアセチル-L-BPを還元したのち、アセチル化して2-N-アセチル-5-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロバイオプテリン(以下テトラアセチル体と略称)を得、これを光学分割、加水分解して目的物を得ている。しかしながらテトラアセチル体は非常に酸素に敏感で、通常の再結晶法による光学分割は困難であり、光学純度の高い目的物を得るには非常な努力を要する。

本発明者らは、トリアセチル-L-BPを還元したのち、無水酢酸と加熱することにより2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロバイオプテリン(以下ペンタアセチルと略称)が得られ、この化合物は安定で、シリカゲルカラムを用いるクロマトグラフィにより容易に光学異性体(RおよびS)を分離できることを知った。

本発明はこれらの新知見に基づくもので、(I) 2-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオプテリン〔トリアセチル-L-BP〕を接触還元したのちアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン〔ペンタアセチル〕を生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを経験とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン〔BPH<sub>4</sub>〕の製造法、および(II) 2,5,6-トリアミノ-4-ピリミジノールに5-デオキシアラビノースのヒドラゾンを経験を作用させたのちヨウ素、過酸化水素水および酸素を経験を作用させてL-エリスローバイオプテリン〔L-BP〕を得、これをアセチル化して得られる2-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-L-エリスローバイオプテリン〔トリアセチル-L-BP〕を接触還元したのちさらにアセチル化して2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-

エリスローバイオプテリン〔ペンタアセチル〕を生成させ、次いでこれを光学分割したのち加水分解することを経験とするテトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン〔BPH<sub>4</sub>〕の製造法、ならびに(III) 2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン〔ペンタアセチル〕である。

本発明の方法(I)の反応工程は次のように示される。

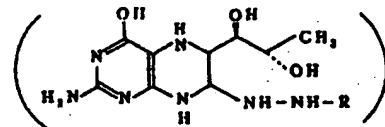
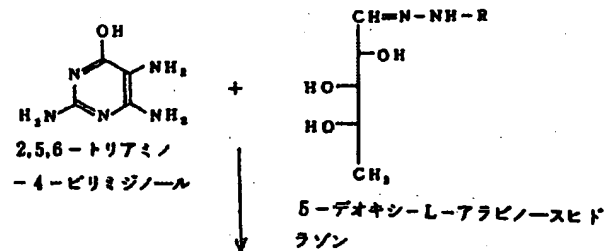


トリアセチル-L-BP

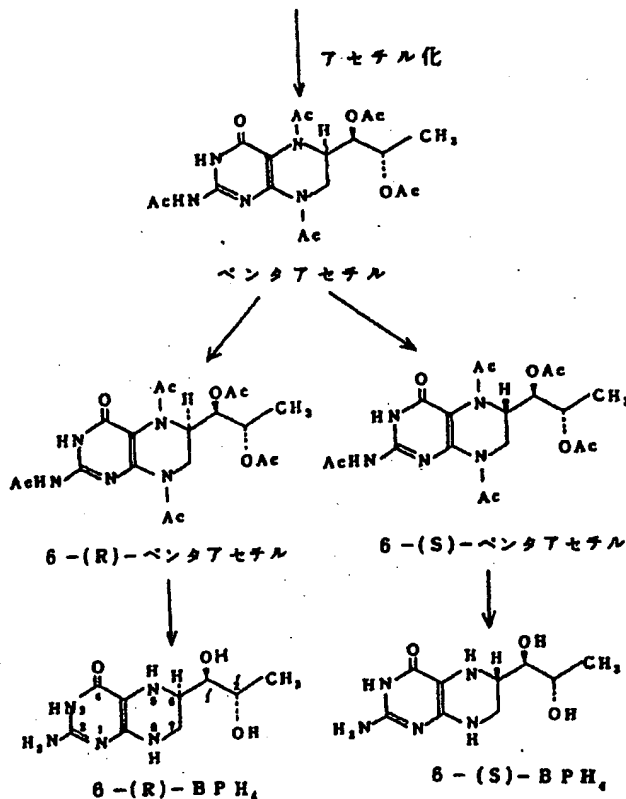
接触還元



本発明の方法(II)の反応工程の後半は(I)と同様であるが前半は次のように示される。



L-BP

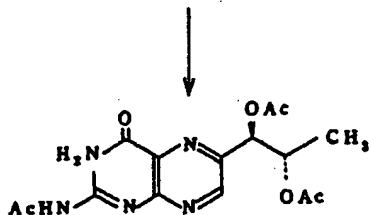


6-(R)-ペンタアセチル

6-(S)-ペンタアセチル

6-(R)-BPH<sub>4</sub>

6-(S)-BPH<sub>4</sub>



トリアセチル-L-BP  
(式中Rは芳香族基)

本発明によれば、トリアセチル-L-BPを接触還元およびアセチル化してペンタアセチルを得る。

接触還元はトリフルオロ酢酸のような溶媒中で常法により行いうる。触媒としては酸化白金、ロジウム、パラジウムなどが挙げられるが、好ましいのは酸化白金である。次いで、得られた還元成酸体をアセチル化する。この反応は究極アセチル化で、そのために無水酢酸のようなアセチル化剤を加熱下に作用させるのがよい。

かくして得られたペンタアセチルを6-(R)体と

をアセトン、メタノールのような有機溶媒で洗浄してヨウ素を除去し、たとえばアンモニア水で抽出、濃縮すれば高収率でL-BPの粗結晶が得られる。この粗結晶は精製することなく直ちにアセチル化することができる。このアセチル化は、たとえば無水酢酸-酢酸を用いて行うことができる。反応生成物は、次いで、シリカゲル等を担体とするカラムクロマトグラフィにより容易に精製することができる。

かくしてトリアセチル-L-BPを収率よく製造することができる。

本発明の他の一部は2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2'-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリン〔ペンタアセチル〕であり、本化合物は前記のように安定な新規物質であって、BPH<sub>4</sub>製造の中間体として有用である。

次に実施例を示すが本発明がこれらの例に限定されないことはいうまでもない。

実施例1. L-エリスローバイオプテリンの製造

6-(S)体に光学分割する。この分割は、たとえばシリカゲルカラムクロマトグラフィにより行うことができる。

次いで各光学異性体を加水分解する。この反応は塩酸のような鉱酸の存在下に緩和な条件で進行させるのが望ましい。

かくして6-(R)-BPH<sub>4</sub>および6-(S)-BPH<sub>4</sub>を得ることができる。

本発明の一部によれば、トリアセチル-L-BPを得るために、先ず2,5,6-トリアミノ-4ピリミジノールに5-デオキシ-L-アラビノースヒドラゾンを作用させ、生成する中間体をヨウ素、過酸化水素水および酸素で酸化する。

5-デオキシ-L-アラビノースヒドラゾンは公知の方法により5-デオキシ-L-アラビノースをフェニルヒドラジンのような芳香族ヒドラジンと作用させることにより得られる。

酸化反応はヨウ素、過酸化水素水を加えた中間体の溶液に酸素を過導して行われうる。

反応混合物から減圧下に溶媒を留去し、残留物

13.6g(0.089モル)の5-デオキシ-L-アラビノース1水和物を30mlのエタノールにとかし、3滴の酢酸を加える。10.3g(0.107モル)のフェニルヒドラジンを5mlのエタノールにとかし加える。数分後反応物は固化する。反応物は30分室温に放置し、ここに150mlのメタノールを加え、攪拌しながら固化物を溶解する。次に450mlの水、300mlメタノールに11.5g(0.054モル)の2,5,6-トリアミノピリミジノール・2塩化物をととした溶液に生成したヒドラゾン溶液を一度に加え、チッ素気流下40分間加熱還流する。加熱することにより溶液は濃赤色になる。加熱後氷水を用い冷却する。

一方22.9g(0.09モル)ヨウ素、40ml30%過酸化水素水、15ml98%酢酸、400mlメタノールの混合液を0°~5°Cに保つ。この酸化剤の溶液に酸素ガスを吹き込みながら上記縮合反応物の溶液を加え、30分間0°~5°Cに保ちながら激しく攪拌する。さらに3時間室温で反応を行ない完結させる。

反応終了後、減圧下濃縮乾固により得られた固体を300 mlアセトン、200 mlメタノールで洗いヨウ素等を除き、1000 mlの2%アンモニア水を用いBPを抽出する。抽出液をつづいて1/4に濃縮すると沈殿物が生じてくる。生じた沈殿物を回収し、50 mlの水で2回、100 mlのメタノールで3回洗い乾燥すると、4.8 g (37%)の粗結晶が得られる。

この粗結晶は高速液体クロマトにより96% L-BP含有と同定された。

(\*ワットマン社製 (Whatman社製) Partisil-10 sec カラム 12.5 mm pH 3.3 酢酸-アンモニアバッファの溶出溶媒を用いた。)

粗結晶4.8 gを750 ml無水酢酸、200 ml酢酸にとかし4時間加熱還流する。減圧下濃縮乾固後カラムクロマトにより精製する。カラムクロマトは350 gのシリカゲル(メルク社 Kieselgel 60)を用い、溶出溶媒として5%メタノール塩化メチレンで溶出すると6.86 g (0.019モル)のトリアセチル-L-バイオプテリンが油状物

Furrer, H. J. ら *Helv. Chim. Acta*, **62**, 2577 (1979)]を40 mlのトリフルオロ酢酸に溶解した溶液を作り、水素ガス雰囲気下、激しく攪拌しながら還元を行なう。反応終了後、触媒はアルゴン気流下減圧ろ過により除去し、溶媒を濃縮乾固する。

残渣をアルゴン雰囲気下2.0 mlの濃塩酸と処理し、次いで冷やした24 mlメタノール(無酸素)、冷却した無酸素エーテル250 mlを加えると無色沈殿が生じる。沈殿物を遠心分離により集め、残っている溶媒は減圧下取り除く。

沈殿物をアルゴン気流下40 mlの無水酢酸に溶解し、あらかじめ120℃に加熱しておいた油浴中で1時間加熱する。溶媒を減圧下留去すると1.42 gの残渣が得られる。

分離、精製は140 gのシリカゲル(メルク社製 Kieselgel 60)を用い、カラムクロマトにより分離する。溶出溶媒は塩化メチレン-メタノール(95:5)を用い注意深くカラムクロマトを行なうことにより目的とする6-(R)-ペンタアセ

として得られる(収率35%)。

このトリアセチル-L-バイオプテリンは文献記載の物理定数と一致する。

トリアセチル-L-バイオプテリン6.86 gを3 N HCl 550 mlに溶解し、50℃で1時間加熱することにより定量的に加水分解される。減圧下水を除去し、残渣を2%アンモニア水で抽出、20%酢酸-水から再結晶を行なうと4.40 g (0.019モル)の純粋な結晶が得られた。収率34%。

得られたL-エリスローバイオプテリンはNMRスペクトル、IRスペクトル、UVスペクトル、 $[\alpha]_D$ 等で文献記載(松浦ら *Bull. Chim. Soc. Jap.*, **52**, 181 (1979)のL-エリスローバイオプテリンと完全に一致した。

#### 実施例2. 5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスローバイオプテリンの製造

360 mgの酸化白金を20 mlのトリフルオロ酢酸に懸濁して水素雰囲気下活性化する。一方1.20 g (3.31 mmol)の2-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチルバイオプテリン(文献既知)[

テル体(6-(R)-2-N-アセチル-5,8-ジ-N-アセチル-1,2-ジ-O-アセチル-5,6,7,8-テトラヒドロバイオプテリン]が597 mg (1.32 mmol、収率40%)得られる。この時光学異性体6-(S)-ペンタアセチル体は329 mg (0.73 mmol、収率22%)得られる。

#### 6-(R)-ペンタアセチル体の物理定数

UVスペクトル:  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  237 m $\mu$  ( $\epsilon=23000$ ), 267 m $\mu$  ( $\epsilon=8200$ )

312 m $\mu$  ( $\epsilon=11000$ )

I.R. スペクトル: ( $\text{cm}^{-1}$ , in  $\text{CHCl}_3$ ) 1200, 1220, 1615, 3000,

$^1\text{H-NMR}$  スペクトル:  $\delta$  ppm ( $\text{D}_2\text{O}$ -DMSO)

1.20 ( $\alpha$ , 3H) = 6H, 3-CH<sub>3</sub>)

1.85 (s, 3H 2'-OCOCH<sub>3</sub>)

2.05 (s, 3H 1'-OCOCH<sub>3</sub>)

2.07 (s, 3H 5-NCOCH<sub>3</sub>)

2.25 (s, 3H 2-NCOCH<sub>3</sub>)

2.26 (s, 3H 8-NCOCH<sub>3</sub>)

3.00~3.62 (m, 2H 1'-H, 2'-H)

3.95 (d, 1H, J=14Hz, 6-H)  
 4.44~5.04 (m, 2H, 7-H)  
 11.48, 11.58 (1H, 3-NH)  
 12.00 (1H, 2-NH)

Mass スペクトル  $M^+$  m/z 451(b.p), 393, 279

6-(S)-ペンタアセチル体の物理定数

UVスペクトル:  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  237nm ( $\epsilon=18200$ ), 267

(5800)

310 ( $\epsilon=8200$ )

I.R. スペクトル: ( $\text{cm}^{-1}$ , CHCl<sub>3</sub>) 1200, 1220, 1610,

1670

3000

<sup>1</sup>H-NMRスペクトル:  $\delta$  ppm (D<sub>2</sub>O-DMSO)

1.16 (d, 3H, J=8Hz, 3-CH<sub>3</sub>)

1.89 (s, 3H, 2'-OCOCH<sub>3</sub>)

1.91 (s, 3H, 1'-OCOCH<sub>3</sub>)

2.03 (s, 3H, 5-NCOCH<sub>3</sub>)

2.22 (s, 3H, 2-NCOCH<sub>3</sub>)

2.25 (s, 3H, 8-NCOCH<sub>3</sub>)

3.10~3.50 (m, 1H, 2'-H)

3.64 (d, d, 1H, 1-H)

4.02 (d, 1H, 6-H)

4.60~5.27 (m, 2H, 7-H)

11.55 (1H, 3-NH)

11.98 (1H, 2-NH)

Mass スペクトル  $M^+$  m/z 451(bp), 395, 393, 335,

279

6-(R)-ペンタアセチル体 597mg を 600 ml の 3 N-HCl に溶解しアルゴン雰囲気下 4 日間室温 (22℃) に放置後、凍結乾燥すると目的とした 6-(R)-BPH<sub>4</sub> (6-(R)-5,6,7,8-テトラヒドロ-L-エリスロ-バイオプアリン)・2塩酸塩が定量的に得られる。収量 319mg (1.32 mmol, 収率 40%)。

得られた 6-(R)-BPH<sub>4</sub> は文献 (Furrer, H. J. ら Helv. Chim. Acta, 62, 2577 (1979) 記載の <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, ( $\alpha$ )<sub>D</sub> と完全に一致した。

同様に 6-(S)-ペンタアセチル体からも定量的に 6-(S)-BPH<sub>4</sub>・2塩酸塩が収率 22% (176

mg, 0.73 mmol) で得られ、物理データは文献値、Furrer, H. J. ら Helv. Chim. Acta, 62, 2577 (1979) と一致した。

出 願 人 サントリー株式会社

代 理 人 弁理士 竹 内

